

RP-HPLC法测定尼莫地平输液含量及其初步稳定性的研究

岗艳云¹ 单萍萍² 何广卫¹ 阳怡 朱家璧

(中国药科大学中昆药剂研究所, 南京 210009)

摘要 采用 RP-HPLC法测定了尼莫地平输液的含量, 并对其光、热稳定性进行了研究。采用 Spherisorb C₈柱, 以甲醇-0.05 mol/L NaH₂PO₄ (7: 3, V/V) (以二乙胺调节 pH至 4.8) 为流动相, 237nm检测, 该方法专属性好, 且灵敏、简便。光、热稳定性研究结果表明: 输液对光不稳定, 对热较稳定, 但随加热时间的延长也会逐渐分解。

关键词 尼莫地平输液; RP-HPLC; 含量测定; 初步稳定性

尼莫地平 (nimodipine) 为第二代二氢吡啶类钙拮抗剂, 是临床认可的脑循环及脑代谢改善剂之一^[1], 除选择性作用于脑血管外, 还兼有神经和精神药理活性。临床药理学研究证明: 尼莫地平可用于蛛网膜下腔出血、偏头痛、脑卒中、突发性耳聋以及慢性血管疾患所致的脑功能紊乱^[2]。该药被认为是治疗脑血管痉挛和脑缺血疾患的有效药物^[3,4]。

尼莫地平含量测定一般采用紫外分光光度法, 但输液由于有辅料干扰, 使结果偏高。本文采用 RP-HPLC法测定其含量, 并对其光、热稳定性进行了研究, 实验证明, 该法专属性好, 能排除辅料和光解产物的干扰, 结果较为理想。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪, 510型高压泵, 715型自动进样器, 486型可变波长检测器, 配以 2010色谱管理系统操作及数据处理软件, 美国 Waters公司生产。

1.2 药品

尼莫地平原料, 山东新华制药厂, 批号

940105, 含量 > 98.5%; 尼莫地平对照品, 由原料自行精制, 经 HPLC面积归一化法测定含量为 99.65%; 尼莫地平输液, 本校中昆药剂研究所自制。

1.3 试剂

甲醇、磷酸二氢钠、二乙胺为市售分析纯; 水为自制双重蒸馏水。

2 方法及结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 保护柱为 μ Bondapak C₁₈ Guard-Pak™, 美国 Waters 公司出品; 分析柱为 Spherisorb C₁₈ (200 \times 4.0 mm ID, 5 μ m) 不锈钢柱, 大连化学物理研究所出品; 流动相: 甲醇-0.05 mol/L NaH₂PO₄ (7: 3, V/V), 以二乙胺调节 pH至 4.8; 流速: 0.8 ml/min; 检测波长: 237 nm; 测定温度: 28 $^{\circ}$ C; 柱效: 按尼莫地平计算为 3740; 尼莫地平与光解产物的分离度为 1.8。

2.2 色谱行为

取尼莫地平对照品及光照、高温、高湿条件下放置的尼莫地平输液适量, 进样分析, 得色谱图 1和图 2, 尼莫地平保留时间 t_R 为

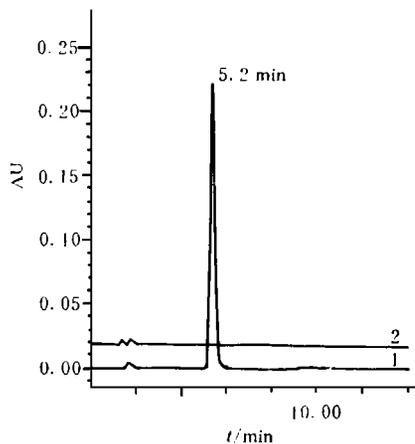


Fig 1. HPLC profiles of nimodipine and additives in injection. 1. nimodipine in mobile phase; 2. additives in mobile phase

5.2 min, 杂质峰 t_R 分别为 3.3, 6.1, 6.5, 9.1, 11.5 min, 其中 6.1 min 峰为主要光解产物。

2.3 线性范围

取尼莫地平对照品适量,精密称定,用甲醇制成每 ml 约含 0.20mg 的溶液作为贮备液,并于 -20°C 冰箱保存。精密量取贮备液 0.2, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8 ml 于 10 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,得一系列溶液,分别取 $50\mu\text{l}$ 进样分析。以浓度为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y),回归,得方程: $Y = 1.7026 \times 10^5 X - 2.091 \times 10^4$, $r = 0.9999$ ($n = 4$),线性范围: $4.14 \sim 37.26\mu\text{g/ml}$

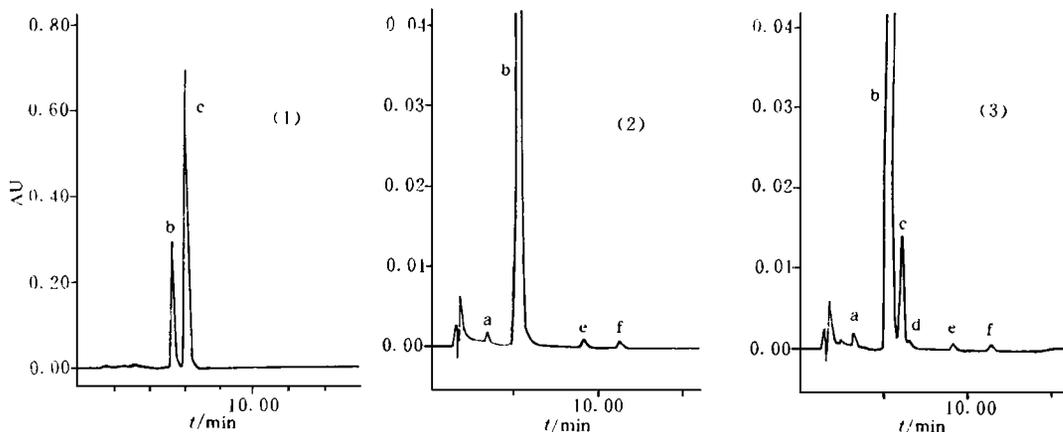


Fig 2. HPLC profiles of nimodipine injection under (1) UV light for 4 h, (2) 60°C and 75% RH for 5 d, (3) artificial daylight for 10 d. a, c, d, e, f impurity, $t_R = 3.3, 6.1, 6.5, 9.1, 11.5$ min, respectively; b nimodipine $t_R = 5.2$ min

2.4 回收率试验

取尼莫地平对照品适量,精密称定,按处方比例配制样品液,精密量取样品液 1.0 ml 于 10 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,按高效液相色谱法^[5],取 $50\mu\text{l}$ 进样分析,重复测 4 次,计算回收率,得回收率为 99.99%, RSD 为 1.94% ($n = 5$).

2.5 精密性试验

取浓度为 4.14, 12.42, 20.70, 28.98, 37.26 $\mu\text{g/ml}$ 的尼莫地平对照品溶液于一

和一周内进样 5 次,测得日内精密度和日间精密性,结果见表 1

Tab 1. Precision of the method. ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

Added, $\mu\text{g/ml}$	Inter-day		Intra-day	
	Found, $\mu\text{g/ml}$	RSD , %	Found, $\mu\text{g/ml}$	RSD , %
4.14	4.23 ± 0.032	0.76	4.24 ± 0.040	0.94
12.42	12.41 ± 0.076	0.61	12.40 ± 0.461	3.72
20.70	20.74 ± 0.250	1.21	20.69 ± 0.403	1.95
28.98	29.07 ± 0.381	1.31	28.92 ± 0.873	3.02
37.26	37.26 ± 0.189	0.51	37.30 ± 0.545	1.46

2.6 含量测定

采用外标法测定样品中尼莫地平的含

量。尼莫地平对照品溶液为 $20.70 \mu\text{g}/\text{ml}$; 样品液配制: 精密量取输液 1.0 ml 于 10 ml 量瓶中, 参照“2.4”项下方法测定

2.7 初步稳定性考察

2.7.1 光稳定性考察 取输液若干置灯检棚 (40W , 光强 $2000\sim 4000\text{LX}$, 距 50cm) 下照射, 分别于 $1, 3, 5, 10 \text{ d}$ 取样, 用 HPLC 测定尼莫地平含量及有关杂质含量, 尼莫地平含量用外标法, 杂质用面积归一化法, 并观察其 pH 变化。结果 (见表 2) 表明: pH 无明显变化, 但尼莫地平在光照条件下很快降解, 因而在生产及贮藏过程中应严格避光。

2.7.2 热稳定性考察 取输液若干分别置 $40, 60, 80^\circ\text{C}$ 下, 于 $1, 3, 5, 10 \text{ d}$ 取样, 用 HPLC 测定尼莫地平及有关杂质含量, 尼莫地平含量用外标法, 杂质用面积归一化法, 并观察其 pH 变化。结果 (见表 3) 表明: pH 无明显变化, 尼莫地平在加热条件下降解较少, 对热较稳定。

Tab 2. Photostability of nimodipine injection

Cont. %	Time, d			
	1	3	5	10
Nimodipine, %	99.63	100.92	97.88	90.51
Impurity, %	4.53	6.16	9.01	9.75

Tab 3. Thermal stability of nimodipine injection

Temp.	Cont. %	Time, d			
		1	3	5	10
40°C	Nimodipine	99.52	98.16	98.03	93.35
	Impurity	1.89	1.91	2.14	2.48
60°C	Nimodipine	99.42	98.01	97.15	92.88
	Impurity	1.36	1.57	1.57	2.39
80°C	Nimodipine	99.22	96.38	94.33	91.16
	Impurity	2.01	2.12	3.03	3.10

3 讨论

尼莫地平乙醇溶液在 237 nm 波长处有最大吸收, 用紫外分光光度法测定含量时, 输液中的辅料以及尼莫地平光解产物在 237

nm 波长处也有吸收, 故不能用紫外分光光度法测定含量, 采用 RP-HPLC 法可将尼莫地平与辅料和光解产物很好地分离, 克服两者的干扰。辅料峰在尼莫地平之前, 变质产品的杂质峰与尼莫地平分离较好。取尼莫地平原料的甲醇溶液在紫外灯下光照数小时, 进样分析, 6.1 min 峰随光照时间延长增大, 且输液光照 10 d 后测试, 6.1 min 峰最大, 确认为主要光解产物。文献报道^[6]认为, 尼莫地平的光解产物是尼莫地平的二氢吡啶环氧化成吡啶环且成苯环上硝基从间位转移至对位所得。

由于 ODS 柱表面有部分未硅烷化的游离硅醇基, 对呈弱碱性药物的色谱行为有较大影响, 故在流动相中加入二乙胺作动态改性剂, 可消除色谱峰拖尾。

初步稳定性试验表明: 尼莫地平输液对光不稳定, 易分解, 对热较稳定。由于尼莫地平分解产物的药效显著降低, 因而在生产及贮藏过程中应严格避光, 而不需考虑正常条件下温度对药效的影响。

参考文献

- 赵慧兰, 樊真, 肖映文. 脑血管治疗药物介绍. 中国药学杂志, 1991, 26(6): 365
- 张均田. 钙通道拮抗剂 1,4-双氢吡啶类第二代新药—尼莫地平. 中国药理学通报, 1987, 3(4): 235
- Harris RJ, Branstom NM, Symon L, et al. The effects of a calcium antagonist, nimodipine, upon physiological responses of the cerebral vasculature and its possible influence upon focal cerebral ischemia. *Stroke* (Dallas), 1982, 13(6): 759
- Barnett GH, Bose B, Little JR, et al. Effects of nimodipine on acute focal cerebral ischemia. *Stroke*, (Dallas), 1986, 17(5): 884
- 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部. 1990. 附录. 34
- Zanocco AL, Diaz L, Lopez M, et al. Polarographic study of the photodecomposition of nimodipine. *J Pharmaceu Sci*, 1992, 81(9): 920

Studies on the Determination and Stability of Nimodipine Injection by RP-HPLC

Gang Yanyun, Shan Pingping, He Guangwei, Yang Yi, Zhu Jiabi

ZhongKun Institute of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing, 210009

Abstract This paper reported the determination of nimodipine injection, and the study of its stability on light and heat. Chromatographic conditions were Spherisorb C₈ column; methanol-0.05 mol/L NaH₂PO₄ (7:3, V/V) (adjusted to pH=4.8 by diethyl amine) as mobile phase; the detector at 237 nm. The assay has good specificity and precision. The results of study of stability to light and heat showed that nimodipine was unstable light, and its content decreased slowly with time to heat.

Key words Nimodipine injection; RP-HPLC; Stability

中国药科大学全日制本专科招生简介

中国药科大学 1996年全日制本专科继续面向全国 29个省、自治区及直辖市招生,也向海外华侨、港澳地区及台湾省招生。

今年本科招生专业有:英语药学、药物制剂、药物分析、药理学、药物化学、化学制药、生物制药、微生物制药、生物工程制药(强化班)、中药制药、中药检定、中药药理学、医药企业管理、药事管理、国际贸易等 15个,其中药事管理专业为今年首次招生。各专业共招 850人,多数专业能覆盖全国。

专科专业有:药物制剂工艺、生物制药工艺及医药贸易等 3个。仅在津、苏、浙、徽、闽、豫、鄂、桂等地招生,共招收 150人。

由于全日制本科在 1995年已实行“并轨”(即实行单一的招生计划形式,不再有国家任务计划和委培、自费等调节性计划之分,新生录取时一律按一种形式,一条录取分数线和一个收费标准),今年仍按“并轨”精神操作,专科未“并轨”,除江苏极少量计划及广西的专科计划作委培形式招生外,其余均按自费生形式招录。

学校已通过“211”部门预审(“211工程”即指面向 21世纪,国家重点建设 100所高等学校和一批重点学科点,以实现四化建设各主要领域需要的高层次建设人才基本立足国内培养的奋斗目标),正积极探索高等药教育教育改革,发展联合办学,努力在教育质量、科研水平、管理水平上能够成为跻身于世界先进行列的综合性药科大学。

学校竭诚欢迎广大医药卫生系统职工及其子女报考我校。让我们为培育和造就一批 21世纪的高级医药科技人才而共同努力。

欢迎广大医药界同仁来信来电咨询及索取资料。

联系地址:南京市童家巷 24号 中国药科大学招生办公室

邮编:210009

电话:(025)3305996/319

(招生办公室)